

Twée typen protrombine bij vitamine-K-deficiëntie

Citation for published version (APA):

Hemker, H. C., Muller, A. D., & Loeliger, E. A. (1970). Twée typen protrombine bij vitamine-K-deficiëntie. *Nederlands Tijdschrift voor Geneeskunde*, 114(52), 2197-2198.

Document status and date:

Published: 26/12/1970

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

61, 701. — LINDE, D. L. VAN DER, O. J. A. TH. MEUWISSEN en L. H. M. VAN GORP (1969) *Ned. T. Geneesk.* **113**, 1413. — RICHMOND, J., G. W. K. DONALDSON, R. WILLIAMS, P. J. S. HAMILTON en M. S. R. HUTT (1967) *Brit. J. Haemat.* **13**, 348. — WINCKEL, W. E. F. en M. AALSTEIN (1953) *Docum. Med. geogr. trop. (Amst.)* **5**, 339.

Discussie:

HARDY: 1. Voor de diagnostiek verdient een punctie van de lymfeklier de voorkeur boven een biopsie. 2. Wat is de oorzaak van de verhoging van de IgM in het serum? Zou men niet eerder een IgG-verhoging verwachten?

ZUIDEMA antwoordt: Ad 1. Dit is juist; dikwijls wordt echter de diagnose kala azar niet overwogen, doch aan sarcoidose, reticulose e.d. gedacht en een lymfeklier voor histologisch onderzoek verwijderd.

Ad 2. Bij kala azar bestaat er een ernstige hypergamma-globulinemie; bij immuno-elektroforetisch onderzoek blijkt vooral de IgM te zijn toegenomen. Dit is niet bevreemdend; ook bij andere protozoaire infecties (gambiense trypanosomiasis, malaria) is de IgM verhoogd.

KLETTER: Is er een bepaalde voorkeurslokalisatie bij de lymfeklierzwellingen?

ZUIDEMA antwoordt: Bij de Middellandse-Zeevorm staat vaak algemene lymfeklierzwellings; bij de „formes frustes” is de vergroting soms tot een enkele groep lymfeklieren beperkt.

JORDANS: Ontstaat er immuniteit na het doormaken van de ziekte?

ZUIDEMA antwoordt: Ja, waarschijnlijk zelfs gedurende het gehele leven.

SEBUS: Komen bij leishmaniasis gastro-intestinale verschijnselen voor?

ZUIDEMA antwoordt: De parasiet bevindt zich dikwijls ook in de reticulo-endothelcellen van de mucosa van dunne en dikke darm. Diarree, soms met bloedig slijm, komt vooral in de latere stadia van de ziekte voor.

Dr. H. C. HEMKER, mej. A. D. MULLER en Prof. Dr. E. A. LOELIGER (Leiden), *Twee typen protrombine bij vitamine-K-deficiëntie*

Ofschoon de herkenning en behandeling van vitamine-K-deficiëntie (hetzij door resorptiestoornis, hetzij geïnduceerd door orale antocoagulancia) van groot belang is, is de werking van vitamine K nog niet duidelijk. In 1963 postuleerden wij dat vitamine K werkt op een stap in de synthese van de stollingsfactoren, die gelokaliseerd is ná de eiwitsynthese in engere zin (HEMKER e.a. 1963). Dit is sindsdien ook door anderen meer en meer waarschijnlijk gemaakt (OLSON 1964; BABIOR 1966; OLSEN 1966; HILL 1968). Wij baseerden onze onderstelling op de waarneming dat men bij vitamine-K-deficiëntie parallel met de daling van de stollingsfactoren II, VII, IX en X een ander eiwit ziet verschijnen. Dit andere eiwit noemden wij PIVKA (Protein Induced by Vitamin K Absence or Antagonists; HEMKER e.a. 1968). PIVKA was herkenbaar omdat het een competitieve remmer is van de factor-X-omzetting en daardoor van de Thrombotestreactie. Het blijkt, dat er nog twee functies van PIVKA aan te tonen zijn, nl.:

a. een langzame vorming van trombine-activiteit onder invloed van protrombinase;

b. een vorming van trombine-activiteit met stafylocoagulase (Coagulase Reacting Factor (CRF)-activiteit).

De concentratie van de stollingsfactoren II, VII, IX en X bij stabiele antistolling wordt door een aantal auteurs verschillend opgegeven. BIGGS en MACFARLANE (1962), ge-

bruik makend van een tweestapstechniek, bepaalden dat het niveau van factor II 10 tot 30 pct hoger ligt dan dat van de factoren VII, IX en X. LOELIGER en medewerkers (1963) daarentegen vonden met een éenstapstechniek alle vier de factoren (II, VII, IX en X) even laag. Het verschil tussen éenstaps- en tweestapsmethoden ligt hierin, dat met de éenstapsmethode de initiële reactiesnelheid gemeten wordt van een reactie waarin factor II beperkend is, terwijl bij de tweestapsmethode alle moleculen die een trombine-activiteit kunnen verwerven, ook als dit langzaam gaat, meetellen.

Het bepalen van protrombine (factor II) in een tweestapsmethode brengt methodologische moeilijkheden mee, daar de gegenereerde trombine door het in het plasma aanwezige antitrombine weggevangen wordt. De snelheid van deze verdwijningsreactie is evenredig met de trombineconcentratie en de antitrombineconcentratie. De antitrombineconcentratie is daarmee bepalend voor de hoeveelheid trombine die gevonden wordt.

Deze moeilijkheid hebben wij op twee verschillende manieren kunnen ondervangen. In de eerste plaats kan men van de stollingbevorderende factoren uit een plasma-monster een representatief preparaat bereiden door de „euglobulineprecipitatie”. Dit preparaat bevat geen antitrombine; de trombine die in zo'n preparaat gevormd wordt, is dan ook niet aan inactivatie onderhevig.

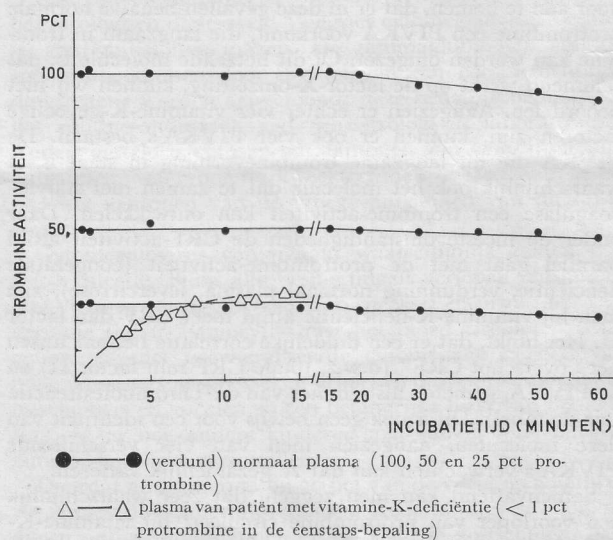


Fig. 1. Trombinegeneratie in euglobulinepreparaat.

Figuur 1 laat zien hoe een monster, bereid van plasma van een patiënt met dicoumarolvergiftiging, die in de éenstaps-bepaling minder dan 1 pct factor II had, nog steeds in staat is een redelijke hoeveelheid trombine te vormen: nl. meer dan 25 pct van de hoeveelheid die een normaal plasma vormt. Deze vorming gaat echter wel langzaam. De vertraagde vorming kan niet worden toegeschreven aan een tekort van de factoren VII en X, omdat deze in overmaat zijn toegevoegd. De vertraagde vorming kan ook niet worden geweten aan der remmende werking van PIVKA, aangezien wij eerder reeds hadden aangetoond dat PIVKA de factor-II-omzetting niet remt, maar de factor-X-omzetting wel.

Een onderzoek van verschillende groepen plasma's toonde aan dat bij vitamine-K-deficiëntie en dicoumarolgebruik de tweestapsbepaling constant ongeveer 20 pct hogere waarden

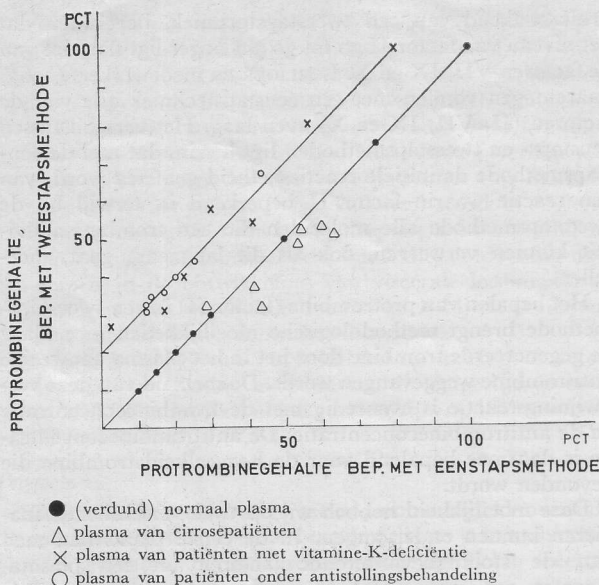


Fig. 2. Vergelijking van protrombinegehalten, bepaald met de één- en de tweestapsmethode.

geeft dan de éénstapsbepaling (fig. 2). Dit kan men verklaren door aan te nemen, dat er in deze gevallen behalve normale protrombine een PIVKA voorkomt, die langzaam in trombine kan worden omgezet. Of dit hetzelfde molecule is, dat remmend werkt op de factor-X-omzetting, kunnen wij niet beoordelen. Aangezien er echter vier vitamine-K-gevoelige factoren zijn, kunnen er ook vier PIVKA's bestaan. De PIVKA die tot langzame trombinevorming in staat is, is waarschijnlijk ook het molecule dat te zamen met stafylocoagulase een trombine-activiteit kan ontwikkelen. Daar onder de meeste omstandigheden de CRF-activiteit altijd parallel gaat met de protrombine-activiteit (congenitale deficiëntie, verdunning normaal plasma, levercirrose), ziet men bij vitamine-K-deficiëntie altijd meer CRF dan factor II. Het blijkt, dat er een duidelijke correlatie bestaat tussen het „overshot CRF” (d.w.z. totale CRF min factor II) en de PIVKA, gemeten als remmer van de Thrombotestreactie (zie de tabel). Dit is ook geen bewijs voor een identiteit van deze moleculen, aangezien men van vier verschillende PIVKA's verwachten kan dat ze gezamenlijk variëren.

Samenvattend kan men zeggen, dat zeer waarschijnlijk een voorloper van protrombine circuleert bij vitamine-K-deficiëntie, maar dat er ook voorstadia van de factoren VII, IX en X in omloop zouden kunnen zijn.

GEMIDDELDE SPIEGEL EN CORRELATIE TUSSEN DE SPIEGEL VAN FACTOR II, CRF EN PIVKA

	Gemiddelde spiegel	Correlatiecoëfficiënt				
		F II	CRF	CRF-F II	PIVKA	
Factor II	23,1 pct	1	—	—	—	
CRF	77,9 „	0,80	1	—	—	
CRF minus F II	55,2 „	0,10	0,80	1	—	
PIVKA	1,81 u	0,03	0,33	0,48	1	

Factor II, CRF en PIVKA werden bepaald volgens ref.*7 en 10 bij 100 patiënten onder chronische antistolling. Een correlatiecoëfficiënt groter dan 0,35 moet als significant beschouwd worden. Het factor II-gehalte is met behulp van een éénstapsmethode bepaald.

Literatuur: BABIOR, B. M. (1966) *Biochim. biophys. Acta* **123**, 606. — BIGGS, R. en R. G. MACFARLANE (1962) *Human blood coagulation and its disorders*, bl. 210. 3e druk. Blackwell Scientific Publications, Oxford. — HEMKER, H. C. en P. W. HEMKER (ter perse) *Thrombos. Diathes. haemorrh. (Stuttg.)*. — HEMKER, H. C. en A. D. MULLER (1968) *Thrombos. Diathes. haemorrh. (Stuttg.)* **19**, 368. — HEMKER, H. C., J. J. VELTKAMP, A. HENSEN en E. A. LOELIGER (1963) *Nature (Lond.)* **200**, 589. — HILL, R. B. B. C. (1968) *J. biol. Chem.* **243**, 3930. — LOELIGER, E. A., B. VAN DER ESCH, M. J. MATTERN en A. S. A. DEN BRABANDER (1963) *Thrombos. Diathes. haemorrh. (Stuttg.)* **9**, 74. — OLSEN, J. P. (1966) *J. clin. Invest.* **45**, 690. — OLSON, R. E. (1964) *Science* **145**, 926.

Discussie:

BROMMER: Wat is er de oorzaak van dat Normotest niet gevoelig is voor PIVKA, terwijl Thrombotest dit wel is?

HEMKER antwoordt: Dit heeft twee oorzaken. Ten eerste is de verdunning van het plasmamonster bij Normotest groter; ten tweede bevat Normotest een andere tromboplastine-component dan Thrombotest.

J. H. P. WILSON, mej. T. CASEMIER en Prof. Dr. H. O. NIEWEG (Groningen), *Agranulocytose na het gebruik van ajmaline*

Ajmaline is een Rauwolfia-alkaloïd met een anti-aritmische werking, vergelijkbaar met chinidine. Hematologische bijwerkingen zijn van dit middel niet beschreven. Tijdens langdurige orale toediening van ajmaline ontstond bij 5 patiënten agranulocytose. Alle patiënten kregen ook andere geneesmiddelen, maar bij vier patiënten resulteerde staken van ajmaline alléén, in een snel herstel.

Complementbindingsreacties, agglutinatieproeven en plaatjesfactor-3-activeringstests werden in de aanwezigheid van ajmaline gedaan met serum van 3 patiënten; alle proeven gaven negatieve resultaten. Een leukocytotoxiciteitstest werd uitgevoerd met serum van iedere patiënt en ajmaline. Sera van andere patiënten, nl. zonder hematologische ziekten, dienden als controle. Alle sera werden op twee verschillende tijden getest.

Bij 4 van de 5 patiënten werd hierdoor een aanwijzing gevonden voor de aanwezigheid van ajmaline-afhankelijke antileukocytenactiviteit. Het klinisch beloop en het resultaat van de leukocytotoxiciteitstest maken het zeer aannemelijk dat ajmaline een „allergische agranulocytose” kan veroorzaken, zoals ook bij amidopyrinum gezien wordt.

Discussie:

DE VRIES: Wat verstaat U onder agranulocytose: alleen het ontbreken van granulocyten, of tevens een erythrocytopenie resp. trombocytopenie?

WILSON antwoordt: Alleen het ontbreken van granulocyten.

BROMMER: Heeft U uit beenmergpreparaten een indruk gekregen of remming van de granulopoëse op een bepaald niveau plaatsvond? Waren de voorstadia wél aanwezig?

WILSON antwoordt: Voorstadia van de granulocyten waren wel aanwezig in de beenmergpreparaten van de twee patiënten bij wie een beenmergpunctie werd verricht. De enige afwijking was een relatieve toename van lymfocyten in één van de preparaten.

KURSTJENS: Bestaat er kruisovergevoeligheid tussen chinidini sulfas en ajmaline?

WILSON antwoordt: Voorzover mij bekend is, niet.

Dr. J. F. DE WIJN en N. A. PIKAAR (CIVO-TNO, Zeist), *Hemoglobine, serumijzer en transferrine-verzadigingspercentage bij gezonde kinderen van 9 tot 17 jaar (longitudinaal onderzoek)*

Tijdens een semi-longitudinale groeistudie werden bij 170 gezonde kinderen (93 jongens en 77 meisjes) op de leeftijd van 9, 13 en 17 jaar Hb-gehalte, serumijzergehalte en het transferrine-verzadigingspercentage onderzocht.

Bij de jongens kwam op geen der genoemde leeftijden ijzergebrekanemie (d.w.z. een verlaagd Hb-gehalte en een transferrine-verzadigingspercentage lager dan 15 pct) voor. Latente ijzerdeficiëntie (d.w.z. ijzerdepletie zonder anemie) werd daarentegen in resp. 15, 24 en 4,5 pct der gevallen waargenomen.

Bij de meisjes kwam ijzergebrekanemie voor in resp. 1, 5 en 7 pct der gevallen en latente ijzerdeficiëntie in resp. 12, 12 en 15 pct der gevallen.

Bij 17 kinderen (10 pct), zowel jongens als meisjes, werd bovendien tijdens of na de puberteit een lichte anemie met normaal transferrine-verzadigingspercentage gevonden. Mogelijk is deze anemie het gevolg van banale infecties of van een weinig gespieerde (ectomorfe) lichaamsbouw.

De hoge frequentie van ijzerdepletie gedurende de puberteit is een uiting van ijzerhonger door verhoogde behoefte. In de adolescentie bij meisjes is deze waarschijnlijk mede het gevolg van bloedverlies door menses.

Bovendien worden voedingsfactoren verantwoordelijk gesteld voor deze bevindingen. De voeding bevat echter slechts zelden te weinig ijzer zodat hierdoor zeker niet een zo groot aantal gevallen van ijzerdepletie kan ontstaan. Andere voedingsfactoren kunnen de resorptie van in voedsel beschikbaar ijzer verminderen (bv. triglyceriden bij overwegend vetrijke voedingen); andere ijzerresorptiebelemmerende factoren in de voeding (eigeel, melk en bicarbonaat) kunnen eveneens soms de frequente ijzerdepletie met of zonder anemie verklaren.

Discussie:

HELLEMAN: Waarom hanteert U het begrip „mediaan” in plaats van „mean” of „modus”?

DE WIJN antwoordt: Bij een niet-symmetrische verdeling van de individuele waarden kunnen het gemiddelde en de standaardafwijking een verkeerd beeld van de situatie binnen de groep geven. In dat geval geeft, in het bijzonder bij vergelijking in follow-up, de mediane waarde betere informatie. Dit is namelijk het getal waarboven en waaronder 50 pct van de waarnemingen liggen (50e percentiel). Andere percentielgrenzen voor de randgebieden van de spreiding (P_{10} en P_{90}) hebben overeenkomstig, bij ongelijke verdelingen, de voorkeur boven standaardafwijkingen van het gemiddelde. De modus is een wat ouderwets statistisch begrip.

Mej. Dr. J. G. KAPSENBERG (R.I.V., Bilthoven), *Cytomegalovirusinfectie bij volwassenen; virologische aspecten*

De naam cytomegalie slaat op de grote cellen met intranucleaire insluitsels, die in ongeveer 10 pct van de speekselklieren van jonge kinderen kunnen worden waargenomen; ze zijn lang gezien als gevolg van een protozoaire infectie. Een dodelijke gegeneraliseerde infectie van pasgeborenen is lang het enige bekende ziektebeeld geweest.

In de denkwereld van de moderne medische virologie neemt het cytomegalovirus een bijzondere plaats in door de sinds enkele jaren bekend geworden eigenschappen. Het cytomegalovirus bleek tot de herpesvirusgroep te behoren: deoxyribonucleïnezuur (DNA)-virussen met icosaeëdermodel, omgeven door een enveloppe, die in de kern groeien, 162 capsomeren bezitten en zonder enveloppe een grootte heb-

ben van 110 m μ . Herpes-simplexvirus is de naamgever voor deze groep geweest.

De herpesvirusgroep is verrassend groot gebleken. Elk dier heeft zijn eigen herpesvirus en vaak ook zijn eigen cytomegalovirus. Al lijken de ziekten, die deze virussen veroorzaken, totaal verschillend, toch zijn er in de pathogenese soms verrassende overeenkomsten, zoals ernstige gevolgen bij intra-uteriene besmetting en neiging tot persisterende infecties.

Bij de mens behoren tot de herpesgroep de volgende virussen: herpes-simplexvirus, varicellavirus, cytomegalovirus en EB-virus (Epstein-Barr-virus). Het EB-virus is geassocieerd met het Burkitt-lymphoma en is waarschijnlijk de oorzaak van mononucleosis infectiosa.

Hoe wordt in het laboratorium een infectie met cytomegalovirus vastgesteld?

In de eerste plaats door virusisolatie. Afhankelijk van de hoeveelheid virus die in het ingezonden materiaal aanwezig is, ziet men in de weefselkweek cytopathologische veranderingen binnen een paar dagen of pas in de loop van een week of zes ontstaan. Na fixatie volgens Bouin en kleuring met hematoxyline-eosine ziet men gezwollen cellen met kernveranderingen en cytoplasma-verkleuring. Al zijn de kerninsluitsels van herpes-simplex- en varicella-virus zeer verwant, toch is de afwijking voldoende specifiek om het cytomegalovirus op deze wijze zonder nadere serologische typering te herkennen.

Een tweede hulpmiddel voor de virologische diagnose is het serologisch onderzoek. Wie met cytomegalovirus besmet is, gaat antistoffen maken. De gammaglobulinen van de IgG-klasse kunnen door middel van een complementbindingsreactie worden aangetoond; deze bepaling behoort tot het routine-onderzoek van een virologisch laboratorium. Anders gesteld is het met het aantonen van neutraliserende antistoffen, waarvoor de kweektechniek te langzaam is en met het aantonen van de vroege antistoffen van de IgM-klasse.

Cytomegalovirus veroorzaakt waarschijnlijk zelden een acute infectie. Bijna alle besmettingen verlopen chronisch. Het virus wordt uitgescheiden in speeksel en urine; het kan geruime tijd in lymfocyten met het bloed circuleren. Pasgeborenen met gegeneraliseerde cytomegalie hebben vrij hoge virustiters in speeksel en urine; zij blijven maandenlang uitscheiders en vormen zo een belangrijke bron van besmetting. Maar ook andere kinderen met subklinische infectie kunnen het virus verspreiden.

Doordat antistoffen al bij 30 pct van de vijfjarigen aanwezig zijn, is de besmettingsgraad in Nederland even hoog als die in ontwikkelingslanden en op Engelse kostscholen. Anderzijds blijven toch ongeveer 30 pct van de volwassenen vrij van besmetting.

De tot nu toe bekend geworden ziekten en syndromen zijn weergegeven in de tabel. Een in het bijzonder bij volwassenen voorkomende aandoening is de mononucleosis zonder heterofiele antistoffen en meestal ook zonder pharyngitis en lymfadenopathie, die door het werk van de Finse onderzoekers KLEMOLA en KAARIÄINEN sedert 1965 aan dit virus kan worden toegeschreven. Hetzelfde is het geval met het posttransfusiesyndroom, waarbij de lymfocyten in getransfundeerd vers bloed de besmettingsbron moeten zijn. Bij volwassenen met immuno-insufficiëntie, hetzij door hun oorspronkelijke ziekte, hetzij door behandeling met immunosuppressiva, komt gegeneraliseerde cytomegalie voor als complicatie. Vooral transplantatie-patiënten ontkomen zelden aan een manifest worden van de cytomegalie. Dergelijke patiënten scheiden zeer veel virus uit.

CYTOMEGALOVIRUS

Neonatale gegeneraliseerde cytomegalie
Hepatitis
Pneumonitis
Mononucleosis
Post-transfusiesyndroom
Generalisatie bij immuno-insufficiëntie
Polyneuritis?

Lang niet elke volwassene die blijkens de vorming van antistoffen na transfusies een besmetting doormaakt, heeft ziekteverschijnselen. De Finse onderzoekers vonden bij 9 patiënten met een titerstijging slechts 1 patiënt met het mononucleosisbeeld.

De aanwezigheid van antistoffen reeds vóór de operatie beschermt niet altijd tegen het manifest worden van de besmetting, al zou de ziekte in dergelijke gevallen wel licht verlopen.

Virusvermeerdering gaat lang door, ondanks de aanwezigheid van antistoffen. Vermoedelijk worden ook in vivo cellen besmet door direct contact met andere cellen. Wij hebben eenmaal veel virus aangetoond in een lymfeklier van een patiënt met post-transfusiesyndroom, 6 maanden nadat de transfusies bij hem plaatshadden, terwijl de titer van complement-bindende antistoffen reeds vanaf de 40e postoperatieve dag 1:32 was.

Het noemen van polyneuritis van het type Guillain-Barré moet voorlopig nog als dubieus worden beschouwd. Er zijn enkele aanwijzingen, dat soms het cytomegalovirus voor deze ziekte verantwoordelijk zou kunnen zijn.

Welke waarde kan men nu hechten aan de uitslagen van virologisch onderzoek? Vooropgesteld moet worden, dat de cytomegalovirusinfectie zich anders gedraagt dan acute infectieziekten, zodat regels die voor de laatste gelden, niet opgaan. De infectie is meestal chronisch met langdurige virusuitscheiding en blijvende antistoftiters. Bij het beoordelen van cytomegalovirusonderzoek moet dan ook alles in overweging worden genomen: de leeftijd van de patiënt, het ziektebeeld, de ziekteduur bij het afnemen van het te onderzoeken materiaal, de wijze van transport.

Cytomegalovirus is labiel. Wanneer de vrij bewerkelijke isolatiepogingen zin willen hebben, moeten speeksel, sputum, urine of lymfocyten opgezonden worden in een transportmiddel dat in de kortst mogelijke tijd het laboratorium moet bereiken. Voor serologisch onderzoek is om activiteit van de infectie te bewijzen, een serumpaar nodig. Hier moet het eerste monster zó vroeg in het ziekteverloop zijn afgenomen, dat het aantonen van een titerstijging nog mogelijk is. Wij vonden 24-30 dagen na de transfusies nog negatieve titers; daarna komen de stijgingen. Lymfocyten tonen een besmetting in de derde en vierde postoperatieve week.

Virusisolatie uit urine en speeksel gelukt nog wel een tot twee maanden na het begin van de ziekte. In het algemeen verdient het aanbeveling, zo spoedig mogelijk serum in te sturen, met vermelding van de datum waarop de ziekte begon en, in geval van transfusies, de datum van de toediening hiervan. Het laboratorium zal, afhankelijk van deze gegevens, een later serummonster en eventueel materiaal voor virusisolatie vragen.

M. M. A. C. LANGENHUYSEN, mej. Dr. J. G. KAPSENBERG,
Dr. T. H. THE en Prof. Dr. H. O. NIEWEG (Groningen),
Cytomegalovirusinfectie bij volwassenen

I. Patiënten

Een infectie met cytomegalovirus (CMV) bij volwassenen is, in tegenstelling tot de voor kort gangbare opvatting, geen

zeldzame aandoening. Gedurende de laatste drie jaar konden wij een CMV-infectie door serologisch en virologisch onderzoek aantonen bij 24 volwassenen. De diagnose werd bevestigd door een duidelijke stijging van complement-bindende antistoffen bij 14 van 23 patiënten en ondersteund door virus-isolatie bij 13 van 21 patiënten. Het virus werd bij 11 patiënten aangetoond in de urine, bij 5 in een monduitstrijk, bij 2 in gewassen leukocyten en bij 1 in een lymfeklier. In tabel I zijn de patiënten in vier groepen ingedeeld. Twee patiënten, die groep d vormen, komen onder III ter sprake. Het voorkomen van ziekteverschijnselen bij de overigen wordt in tabel II samengevat en voor wat de groepen a en b betreft, vergeleken met door ons uit de literatuur verzamelde gegevens. Bij deze vergelijking blijkt er een grote overeenstemming te bestaan betreffende het post-transfusiesyndroom. Wij vonden echter meer chemische bloedveranderingen die op leverfunctiestoornissen kunnen wijzen dan in de literatuur zijn vermeld (thymoltroebeling, alkalische fosfatase en SGPT, SGOT, broomsulfaleïne (BSP) en bilirubine, 5-nucleotidase, in deze volgorde van frequentie), waarschijnlijk als gevolg van veelvuldiger bepalingen. In dit opzicht komen de uitkomsten bij onze patiënten met het post-transfusiesyndroom beter overeen met die bij de in de literatuur beschreven patiënten met CMV-mononucleosis zonder voorafgaande bloedtransfusie. Voor het ontbreken van hepatomegalie bij onze patiënten uit groep a hebben wij geen verklaring. In overeenstemming met de gegevens van groep b

TABEL I. VERDELING VAN 24 PATIËNTEN MET EEN CMV-INFECTIE IN GROEPEN

Groep a. Post-transfusiesyndroom	13
Groep b. Mononucleosis met negatieve reactie van Paul-Bunnell, zonder voorafgaande bloedtransfusie	2
Groep c. Patiënten met verminderde weerstand	7
Groep d. Patiënten na bloedtransfusie, zonder klachten	2
Totaal	24

TABEL II. VOORKOMEN VAN VERSCHIJNSELEN IN PCT BIJ 13 PATIËNTEN MET HET POST-TRANSFUSIESYNDROOM EN BIJ 2 MET CMV-MONONUCLEOSIS ZONDER VOORAFGAANDE BLOED-TRANSFUSIE, IN VERGELIJKING MET GEGEVENS UIT DE LITERA-TUUR; VERSCHIJNSELEN VAN CMV-INFECTIE BIJ 7 PATIËNTEN MET VERMINDERDE WEERSTAND

	Groep a		Groep b		Groep c
	Lit.	Eigen pat.	Lit.	Eigen pat.	Eigen pat.
Aantal patiënten	221	13	45	2	7
Koorts	96	92 (11/12)*	100	2/2*	2/5*
Atypische lymfocyten	95	92 (12/13)	84	2/2	0/6
Leverfunctiestoornissen**	51	83 (10/12)	100	1/2	2/4
Splenomegalie	48	36 (4/11)	39	1/2	0/4
Hepatomegalie	26	0 (0/13)	33	2/2	0/5
Lymfadenopathie	19	23 (3/13)	31	1/2	0/5
Exantheem	9	15 (2/13)	27	0/2	0/7
Pharyngitis	9	8 (1/13)	22	0/2	0/7
Heterofiele antistoffen***	8	8 (1/13)	0	0/2	0/6
Hoesten		15 (2/13)	23	0/2	2/6

*Aantal patiënten met het verschijnsel op aantal te beoordelen gevallen.

**Chemische bloedveranderingen die kunnen wijzen op leverfunctiestoornis.

***Titer na absorptie met cavanier hoger dan 32.

TABEL III. GEGEVENS VAN 7 PATIËNTEN MET VERMINDERDE WEERSTAND EN CMV-INFECTIE

<i>Pa-tiënt</i>	<i>Diagnose</i>	<i>Verschijsen, die tot de diagnose CMV-infectie hebben geleid</i>
1	acute leukemie	hoesten, verslechtering van leverfuncties
2	acute leukemie	koorts, koude agglutinenen
3	pancytopenie e.c.i.	koorts, hoesten
4	pancytopenie e.c.i.	(grote lymfocyten)
5	pancytopenie e.c.i.	(koorts, hoesten, afwijkingen op thoraxfoto)
6	serumhepatitis	(atypische lymfocyten, leverfunctiestoornis)
7	zoster	polyradiculoneuritis

uit de literatuur vonden wij in onze eigen groep a twee patiënten met een prikkelhoest. De enige patiënt met heterofiele antistoffen (titer > 512 na absorptie met cavianier) bleek, behalve een serologisch en virologisch bevestigde CMV-infectie, ook een duidelijke titerstijging van antistoffen tegen Epstein-Barr(EB)-virus te hebben (KAPSENBERG e.a. ter perse). Deze waarneming maakt waarschijnlijk, dat er ten minste twee virussen zijn, die aanleiding kunnen geven tot het post-transfusiesyndroom. Bij patiënten met verminderde weerstand, zoals bij maligne ziekten van de bloedvormende organen, die met corticosteroiden of cytostatica worden behandeld, wordt de infectie zelden gedurende het leven ontdekt. De bij de oorspronkelijke ziekte behorende afwijkingen kunnen de verschijnselen van de infectie maskeren. Toch moet bij deze groep patiënten CMV soms als de directe doodsoorzaak worden beschouwd. Zoals uit tabel II blijkt, konden wij in enkele gevallen koorts, hoesten en leverfunctiestoornissen toeschrijven aan de intercurrente CMV-infectie. Het is opmerkelijk, dat geen enkele van 6 patiënten atypische lymfocyten had. Dit kan samenhangen met een onvermogen tot immunologische afweerreacties. De aard van de oorspronkelijke ziekte en de verschijnselen die tot de diagnose CMV-infectie hebben geleid, worden vermeld in tabel III. Eén patiënt met acute leukemie was behandeld met prednison, vincristine en 6-mercaptopurine, de andere met rubidomycine. Eén van de patiënten met pancytopenie kreeg prednison in hoge dosering. De meeste patiënten hadden herhaaldelijk bloedtransfusies gekregen. Het is niet duidelijk of de grote lymfocyten die bij patiënt 4 tot de diagnose hebben geleid en die gedurende een lange observatieperiode aanwezig waren, verband hielden met de CMV-infectie. De verschijnselen van patiënt 5 kunnen ook verklaard worden uit de tegelijk bestaande bacteriële luchtweginfectie. Er zijn aanwijzingen, dat een virusinfectie de weerstand tegen een ander virus kan verminderen. De patiënten 6 en 7 zijn daarom in deze reeks opgenomen. Patiënt 6 kreeg 9 weken na bloedtransfusie een ernstige hepatitis. Laat in het verloop van deze vermoedelijke serumhepatitis werd er een duidelijke titerstijging van antistoffen tegen CMV gevonden. De atypische lymfocyten en leverfunctiestoornis kunnen geheel passen in het beeld van de serumhepatitis. Patiënt 7 kreeg in aansluiting aan een herpes-zoster-infectie een polyradiculoneuritis, die bleek samen te gaan met een CMV-infectie. Een dergelijke complicatie van de CMV-infectie is reeds eerder beschreven.

II. IgM-antistoffen tegen CMV

Het gebruikelijke virologisch en serologisch onderzoek is tijdrovend. Virus-isolatie kan enkele weken in beslag nemen.

Voor de serologische diagnose zijn twee serummonsters, afgenomen op verschillende tijden, nodig omdat er een titerstijging van complement-bindende antistoffen moet worden aangetoond. Een snellere bevestiging van de diagnose is belangrijk om twee redenen:

1. De diagnose kan bij een ernstig ziekteverloop therapeutische consequenties hebben, zoals toediening van de DNA-synthese remmende stoffen (IDU).

2. Bij een goedaardig verloop, zoals bij het post-transfusiesyndroom, kan de vaak hoge koorts aanleiding geven tot onnodige bezorgdheid wanneer de diagnose niet vaststaat.

Omdat een immunologische reactie meestal begint met productie van IgM-antistoffen, hebben wij ons onderzoek op deze antistoffen gericht. De resultaten worden elders uitvoerig gepubliceerd (LANGENHUYSEN e.a. ter perse). Er werd gebruik gemaakt van een indirecte immunofluorescentietechniek op een met CMV geïnoculeerde fibroblastenkweek. Hierop werden achtereenvolgens aangebracht: serum van de patiënt in verdunningen, konijne-antimenselijke IgM met FITC geconjugeerde geite-antikoniënglobuline.

Van 9 patiënten werden 32 sera onderzocht. IgM-antistoffen werden niet aangetoond in sera die vóór het begin van de ziekteverschijnselen waren afgenomen, noch in 4 sera die 1 tot 7 dagen na het begin van de ziekte waren verzameld. Alle patiënten hadden 11 of meer dagen na het begin van de verschijnselen hoge titers van IgM-antistoffen tegen CMV. Het voorkomen van deze antistoffen ging vooraf aan dat van complement-bindende antistoffen. De IgM-titers in 31 sera van 24 controlepersonen bedroegen nooit meer dan 8. In dit onderzoek werden titers van 16 of hoger alleen gevonden bij patiënten met een CMV-infectie. Waarschijnlijk hadden alle 9 onderzochte patiënten een primaire infectie. Een van de voordelen van deze methode boven de complementbindingsreactie is, dat bij een positieve uitslag geen tweede serummonster hoeft te worden onderzocht.

III. Bloedtransfusie, reumaserologie en CMV-infectie

Bij 5 van 8 patiënten met het post-transfusiesyndroom vonden wij 35 tot 45 dagen na de transfusie een voorbijgaande positieve Rose- en (of) latextest. Er was een duidelijke tijds-correlatie tussen het ontstaan van deze anti-gammaglobuline-antistoffen; en complement-bindende en IgM-antistoffen tegen CMV. Bij CMV-mononucleosis zonder voorafgaande bloedtransfusie zijn positieve reumareacties beschreven. Ze zijn ook vermeld na bloedtransfusie, maar niet in verband gebracht met een virus-infectie. Ter controle onderzochten wij de sera van 10 opeenvolgende patiënten die 35 tot 45 dagen tevoren een open hartoperatie hadden ondergaan en zich niet ziek voelden. Bij twee patiënten viel het reumaserologisch onderzoek positief uit. Duidelijke titerstijgingen van antistoffen tegen CMV toonden aan, dat beide een CMV-infectie doormaakten. De IgM-titers van deze twee patiënten bedroegen ten tijde van de positieve reumareacties 16 en 64, die van de overige 8 patiënten uit de controlegroep 8 of minder. Wij menen te mogen concluderen, dat er een duidelijke relatie bestaat tussen CMV-infectie en positieve reumareacties na bloedtransfusie. Het is echter niet uitgesloten, dat ook andere mechanismen betekenis hebben. Het verband tussen de virus-infectie en de positieve reacties is trouwens nog niet opgehelderd. Ontstaat er een specifieke prikkeling van het immuunapparaat of worden er IgM-antistoffen gevormd tegen een virus-IgG-complex?

IV. Consequenties voor het bloedtransfusiebeleid

Er is ons uit de literatuur geen geval bekend van het post-transfusiesyndroom, ontstaan na toediening van bloed

dat meer dan één dag voor de transfusie was afgenomen. Dit geldt ook voor onze eigen patiënten. Bij patiënten met verminderde immunologische weerstand, zoals na toediening van cytostatica of corticosteroiden, is het gebruik van vers bloed af te raden. Wegens de grote gevaren van een CMV-infectie bij zuigelingen zouden wij willen adviseren, ook aan zwangeren en pasgeborenen bij intra-uteriene transfusies en bij transfusies in het puerperium zo mogelijk alleen bewaard bloed toe te dienen. De waarde van deze profylactische maatregel zal nog moeten blijken. Het alternatief: donorselectie op grond van de aan- of afwezigheid van antistoffen tegen CMV in het serum, biedt echter ons inziens geen veiligheid.

Discussie:

WERRE: Zoals bekend is, wordt bij mononucleosis infectiosa met positieve reactie van Paul-Bunnell een verhoging van de LDH-activiteit in het serum gevonden, voornamelijk veroorzaakt door de fracties 2 en 3 en in mindere mate door de fracties 4 en 5. Dit zelfde beeld werd waargenomen bij drie patiënten met een post-transfusiesyndroom door besmetting met cytomegalovirus. Bij één patiënt werd een beeld zoals van een post-transfusiesyndroom gezien (3 weken postoperatief ontstonden koorts en lymfocytose), maar een cytomegalovirusinfectie kon niet worden aangetoond. Een verhoging van LDH met de genoemde fractieverdeling werd als argument voor de diagnose post-transfusiesyndroom gebruikt. Bent U het eens met deze zienswijze?

LANGENHUYSEN antwoordt: Ook wij hebben in enkele gevallen een verhoging van de fracties 2 en 3 waargenomen. Waarschijnlijk kan dit patroon wel als argument voor de diagnose post-transfusie-syndroom gelden. Dat U geen CMV-infectie kon aantonen, kan berusten op het feit dat EB-virus de oorzaak was van de door U waargenomen gevallen.

BROMMER: U oppert de mogelijkheid van een aspecifieke stimulatie van het immuun-apparaat als oorzaak van de positieve Rose- en latextest. Heeft U ook andere titerstijgingen waargenomen van tevoren positieve serologische reacties zoals de reactie van Widal, antistoffen ten gevolge van actieve immunisatie, antistoffen tegen toxoplasmose e.d.?

LANGENHUYSEN antwoordt: Aspecifieke stimulatie is slechts één van de mogelijkheden. Een andere mogelijkheid is de vorming van IgM-antistoffen tegen een virus-IgG-complex. De genoemde reacties hebben wij niet uitgevoerd.

DUDOK DE WIT: 1. Is het mogelijk, de immunofluorescentietechniek toe te passen voor het aantonen van IgG-antistoffen en loopt deze reactie dan parallel met de titer aan complement-bindende antistoffen? 2. U adviseert in bepaalde omstandigheden geen vers bloed toe te dienen, maar bloed dat bij 4° C is bewaard ten einde overbrenging van het cytomegalovirus te voorkómen. Welke termijn van bewaren beveelt U daarbij aan en op welke waarneming is deze termijn gebaseerd?

LANGENHUYSEN antwoordt: Ad 1. Dit is mogelijk. In het beperkte materiaal dat wij op deze manier onderzocht hebben, liep de reactie parallel met de complementbindings-reactie.

Ad 2. Uit de literatuur en uit eigen ervaring is ons geen enkel geval bekend van het post-transfusiesyndroom na toediening van bloed dat eerder dan één dag tevoren was afgenomen. Exacte gegevens over de levensduur van het virus in bewaard bloed zijn niet bekend. Voorlopig gebruiken wij bloed dat minstens drie dagen bewaard is. Het is mogelijk, dat een langere termijn nodig zal blijken te zijn.

DE VRIES: Er zijn talrijke indicaties waarbij toediening van vers bloed een dringende eis is. Ondanks uw advies, bloed te gebruiken dat bij voorkeur enkele dagen oud is,

noem ik enkele indicaties waarbij dit advies beslist *niet* kan worden opgevolgd, zoals ziekte van Werlhof, extracorporale circulatie, hemofilie A met bloeding, miltextirpatie bij trombopenie en nog verscheidene andere.

LANGENHUYSEN antwoordt: Ons inziens zijn er maar weinig indicaties voor de toediening van vers bloed. Ons advies, bewaard bloed te gebruiken, geldt bovendien alleen voor ontvangers bij wie men ten gevolge van verminderde weerstand een ernstig verloop van de infectie kan verwachten. Als toediening van vers bloed noodzakelijk is, zou men tegelijk gammaglobuline kunnen toedienen met een hoge titer aan antistoffen tegen CMV.

Mevr. BORST: 1. Uit uw voordracht heb ik begrepen, dat het post-transfusiesyndroom alleen een ernstig ziektebeeld is wanneer er tevoren al een immunologische deficiëntie bestond. Kan men aan patiënten met hemofilie, bij open hartchirurgie e.d. dus toch wel zonder al te grote bezwaren vers bloed toedienen? 2. Komt het virus alleen intracellulair in het bloed voor? Zo ja, dan is cryoprecipitaat vermoedelijk ongevaarlijk.

LANGENHUYSEN antwoordt: Ad 1. Dit is inderdaad het geval.

Ad 2. Het virus komt zeer waarschijnlijk alleen intracellulair in de lymfocyten voor.

K. PUNT, Dr. G. E. J. STAAL, Dr. R. A. GEERDINK en mej. C. C. Bos (Utrecht), *Een nieuwe (?) G6PD-variant met verlaagde activiteit in een Nederlandse familie met congenitale sferocytose*

Naar aanleiding van de bevindingen bij een 36-jarige man van Nederlandse afkomst, die het typische beeld toonde van congenitale sferocytose (CS) (met een gemiddeld verhoogd gehalte aan glucose-6-fosfaatdehydrogenase (G6PD) in de erythrocyten, passend bij de reticulocytose) werd, aanvankelijk ter afronding van de diagnose, een onderzoek van zijn familie verricht.

CS werd in drie generaties aangetoond volgens het te verwachten autosomale overervingspatroon. Bovendien bleek echter in deze familie als tweede genetische afwijking der erythrocyten een verlaagde activiteit van het enzym G6PD te bestaan met de hiervoor typische geslachtsgebonden overerving (fig. 1).

Voor zover ons bekend is, is het voorkomen van deze twee erfelijke aandoeningen in één familie niet eerder beschreven.

Bij de patiënten met G6PD-„deficiëntie” bestonden anamnestic geen aanwijzingen voor favisme of voor overgevoeligheid voor geneesmiddelen.

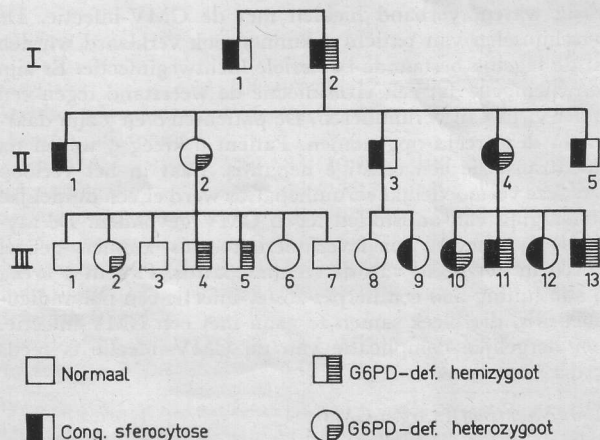


Fig. 1. Stamboom van familie met congenitale sferocytose en G6PD-deficiëntie.

TABEL I. HEMATOLOGISCHE GEGEVENS

Patiënt, geslacht en leeftijd (in jaren)	Diagnose	Hb (g/100 ml)	Retic. (in pct)	Haptogl. (mg/100 ml)	Osm. res. erytr.	Autohemolyse		G6PD $\mu\text{mol/min.}/\text{g Hb}$
						NaCl (in pct)	Glucos. (in pct)	
Norm.			0-2	< 60		$\leq 3,0$	$\leq 1,5$	5,0-7,0
II 5, M, 36	CS	13,1	5,8	0	verlaagd	13,5	1,0	8,2
I 2, M, 73	CS + G6PD-def.	13,0	5,3	0	verlaagd	8,8	3,0	2,6
III 4, M, 17	G6PD-def.	15,2	1,0	60-120	normaal	1,3	0,6	1,0

TABEL II. ENKELE EIGENSCHAPPEN VAN DE G6PD-VARIANT

	Enzym activ. (in pct van de norm)	Km G6P (μM)	Km NADP (μM)	Thermostabil.	pH-optimum	El. for. loopsnelheid (in pct van de norm)
Normaal (type B)	100	10	18	normaal	afgeplat	100
Pat. I 2 (+ CS)	40	8	16	labiel	licht bifasisch	93
Pat. III 4 (— CS)	15	11	25	labiel	licht bifasisch	93

Tabel I toont de hematologische gegevens van drie representatieve patiënten uit deze familie, met resp. CS, CS+G6PD-„deficiëntie” en alleen G6PD-„deficiëntie”. Hieruit blijkt dat het hematologische beeld van de patiënt met CS+G6PD-„deficiëntie” niet verschilde van dat van de patiënt met alleen CS. Het G6PD-gehalte in de erythrocyten was bij hem relatief hoog ten gevolge van de reticulocytose. De patiënt met alleen G6PD-„deficiëntie” had een normaal bloedbeeld zonder tekenen van versterkte bloedafbraak.

Tabel II toont enkele eigenschappen van het abnormale enzym, dat gedeeltelijk werd gezuiverd uit de erythrocyten van twee patiënten met G6PD-„deficiëntie”, resp. met en zonder CS. Hierbij werden de criteria van Beutler gevolgd. De Km-waarden verschilden niet duidelijk van de norm; het pH-optimum was licht bifasisch, met maximum-activiteiten bij resp. pH 7,8 en pH 9,0. Het enzym was duidelijk hitte-labiel: na een incubatietijd van 20 minuten was bij een temperatuur van 45° C de activiteit van het enzym gedaald tot 28 pct van de uitgangswaarde (normaal 70 pct), bij 50° C tot 4 pct (normaal 25 pct). Tenslotte was de elektroforetische loopsnelheid van het abnormale enzym bij pH 7,5 iets lager dan normaal (fig. 2).

Voor zover wij konden nagaan, verschilt deze abnormale G6PD in zijn combinatie van eigenschappen, van alle tot nu toe beschreven G6PD-varianten. Ze lijkt het meest op

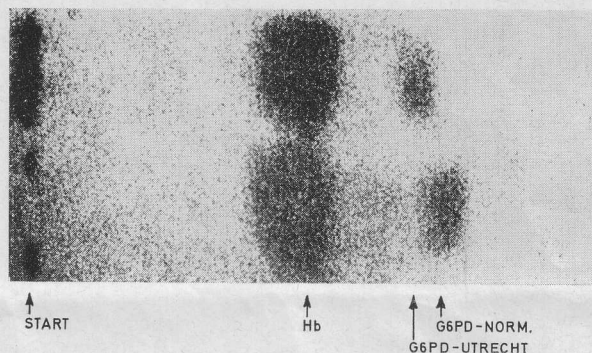


Fig. 2. Elektroforetische loopsnelheden van normale G6PD en van de abnormale variant. (Cellulose-acetaatgel, pH 7,5.)

G6PD-Athene, maar hiervan wordt de hitte-stabiliteit als slechts gering verlaagd opgegeven.

In afwachting van mogelijke verdere classificatie hebben wij aan de hier beschreven G6PD-variant voorlopig de naam G6PD-Utrecht gegeven.

K. PUNT,
secretaris